

蓖麻蚕可溶性蛋白質的研究*

翟 啓 慧

(中国科学院动物研究所)

摘要 本文研究了不同发育阶段蓖麻蚕組織中可溶性蛋白質在性質及含量上的变化。在各发育阶段可溶性蛋白質都包含有清蛋白类、球蛋白类及明胶。在化蛹初期,組織提取液中还发现了初級脉和腓。除明胶以外的可溶性蛋白質总量及其中清蛋白类的含量因发育阶段而异:在蛹初期最高,到羽化前后有显著下降,球蛋白类的含量在各发育阶段比較稳定。雌雄两性的可溶性蛋白質含量不同,在羽化前后这种两性差异最为显著,雌性超过雄性約一倍之多。因此,在蛹后期及成虫中,蛋白質的两性差异在性質上比在数量上更为显著。

曾用紙上层析法分析了可溶性蛋白質的氨基酸組成。在各发育阶段,氨基酸的种类相同,包括胱氨酸(和半胱氨酸)、賴氨酸、組氨酸、精氨酸、絲氨酸、甘氨酸、天門冬氨酸、谷氨酸、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、酪氨酸、纈氨酸(和蛋氨酸)、苯丙氨酸、以及亮氨酸(和异亮氨酸)。色氨酸在酸水解过程中被破坏。文中列出不同发育阶段可溶性蛋白質中各种氨基酸的百分含量。老熟幼虫吐絲結茧后,甘氨酸、丙氨酸、酪氨酸和絲氨酸含量下降。

一、前 言

有关昆虫蛋白質的研究,迄至目前为止,絕大多數的工作集中于血淋巴中蛋白質的分析;尤其近年来由于电泳技术的发展,在这方面的的工作更多。除了血淋巴以外,昆虫其他組織器官的可溶性蛋白質还研究得較少。Mercer (1954) 曾研究过家蚕絲腺中的可溶性蛋白質; Trim (1941) 和 Hackman (1953, 1958) 曾研究过数种昆虫表皮的可溶性蛋白質;小田純子(1955)也进行过家蚕表皮可溶性蛋白質的研究。

至于昆虫整体中可溶性蛋白質的研究則更为少见。早在1933年 Inoue 等曾研究过蚕蛹的水溶性蛋白質,但近一、二十年来的文献中却未見到有关这方面的資料。

本文研究蓖麻蚕 *Philosamia cynthia ricini* (Boisduval) 整体組織中的可溶性蛋白質,进行了定性和定量的分析,并比較了不同发育阶段的变化,目的在于探查昆虫身体中此类成分在个体发育及生殖等过程中的生理意义。

二、材料和方法

本工作中所用蓖麻蚕种,系由上海中国科学院实验生物研究所供給。蚕卵孵化后在室内条件下用蓖麻叶飼养。实验取材是在以下各不同发育阶段:老熟幼虫(上簇前,消化道已排空之幼虫),初期蛹(化蛹后第1—2天之蚕蛹),末期蛹(羽化前1—2天之蚕蛹)及成虫(羽化后尚未交尾产卵之蚕蛾)。

* 在工作中得到欽俊德先生的热情指导和帮助,本文写就承馮慧先生提出宝贵意見,特致謝忱。部分測氮工作由谷成珍和田学文二同志协助,統此志謝。

(本文于1963年3月21日收到)。

分析样品的制备 将上述各发育阶段之材料和适量干冰混合后在研钵中尽量磨碎,然后置于盛有 P_2O_5 的真空干燥器中在室温下抽干。干燥后之材料再磨成细粉,保存于冰箱中。

蛋白质之提取方法 将上述干组织先用石油醚脱脂,准确称重后,放在研钵中加入约等量的细海砂,加少许 2% Na_2SO_4 溶液 ($pH = 7$) 一起研磨。研毕将研钵内的糊状物小心倾入锥形瓶中,并用 2% Na_2SO_4 溶液将研钵洗净,洗液也倾入锥形瓶中。后者固定在电动振荡器上连续振荡 5—6 小时,然后将提取液过滤,并用少许 2% Na_2SO_4 溶液冲洗之,最后将提取液调整至一定体积,加甲苯数滴于液面,保存于冰箱中以备分析。

蛋白质的提取除了用上述在室温条件下连续振荡的方法以外,还曾采取过低温提取的方法,即在提取时将烧瓶置于装满冰块的保温瓶中,用玻璃搅拌器连续搅拌。此法的缺点是提取时间需要很长,一般不能少于 48 小时,此外搅拌速度不能过快,否则生成泡沫,使蛋白质变性。根据分析结果来看,在室温约 $20^\circ C$ 和低温 ($4^\circ C$) 条件下提取出来的可溶性蛋白质含量十分接近,因此为方便起见,除少数样品同时用室温和低温提取,以作比照外,大部分的样品都只采用了上述的室温提取法。

蛋白质的分析方法

1. 定量分析 提取液中蛋白质的含量是根据 Lowry 等 (1951) 的 Folin 酚试剂法测定的。在测定前先作如下的不同处理:

- (1) 提取液稀释一定倍数后,测定 Folin 酚试剂阳性反应物质的总含量。
- (2) 提取液加 $pH\ 4.6$ 的缓冲液后加热使清蛋白类凝固,然后测定滤液中其他 Folin 酚试剂阳性物质的含量。

$A - B$ 则为清蛋白类的含量。

- (3) 提取液加三氯乙酸溶液使蛋白质沉淀后,测定滤液中非蛋白质的其他 Folin 酚试剂阳性物质。

$A - C =$ 被三氯乙酸所沉淀的蛋白质总含量。

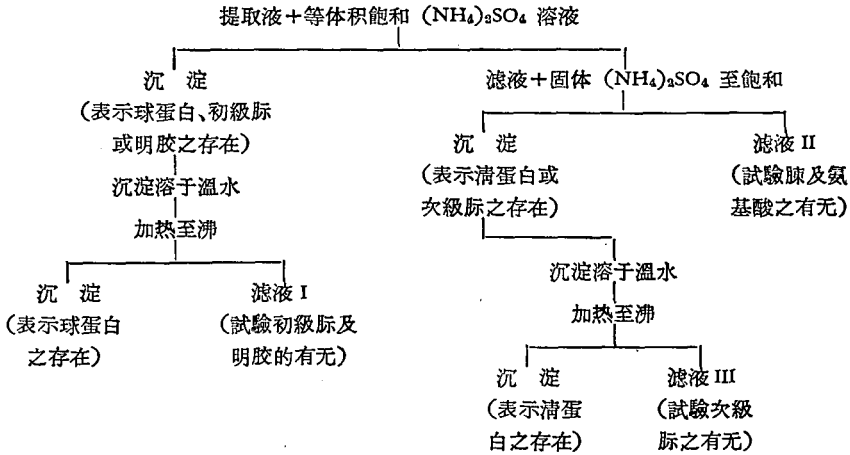
$B - C =$ 除清蛋白类以外其他蛋白质的含量,即球蛋白类的含量。

提取液中蛋白质的定量分析除了上述方法外,又根据 Debro 等 (1957) 的方法测定了清蛋白类和球蛋白类的含量。此法的依据是被三氯乙酸所沉淀的清蛋白类可溶于 95% 的乙醇中,而球蛋白类的沉淀则变性而不被乙醇溶解。因此如果在提取液中先加三氯乙酸溶液使清蛋白球蛋白两类蛋白质全部沉淀,然后再加 95% 的乙醇,可将被三氯乙酸所沉淀的清蛋白类重新溶解,离心除去球蛋白类的沉淀后,可自上清液中测定清蛋白类的含量。从蛋白质总含量中减去清蛋白类的含量即得球蛋白类的含量。溶液中蛋白质浓度的测定亦采用 Folin 酚试剂法。

测定的数据表明用以上二种方法所得到的结果是相符合的。

分析样品中的蛋白质总量系用凯氏法测得蛋白氮的含量后,乘以 6.25。

2. 定性分析 提取液的定性分析主要是先利用盐析法将溶解度不同的蛋白质分为若干部分,然后对各部分进行数种颜色反应 (Hopkins-Cole 乙醛酸反应、双缩脲反应、茚三酮反应) 及沉淀试验 (HNO_3 、苦味酸、鞣酸、95% 乙醇), 以确定其性质。分析步骤如下:



蛋白质中氨基酸组分之分析 提取液经过透析去盐以后浓缩至干。所得之干燥蛋白质准确称重后装入由硬质玻管特制之安瓿管中,并注入一定体积重蒸馏的 20% HCl, 然后用烈火封闭。封管置于 108—110℃ 下水解 24 小时。水解完毕,将管内液体过滤后在 35—40℃ 下减压蒸馏除去盐酸。所得氨基酸样品溶于一定体积之 10% 异丙醇溶液中,以供进行纸上层析。

氨基酸之纸上层析是采用单向下行法,溶剂系统是正丁醇-冰醋酸-水 (30:6:14, V/V) 和正丁醇-甲酸-水 (50:10:10, V/V)。层析纸是 Whatman 1 号滤纸。纸长 55 厘米,在同一溶剂系统中重复扩展 2—3 次。氨基酸纸上层析的定量测定是根据 Филиппович (1958) 的方法。

本文中所有结果是四次以上重复分析的平均数据。

三、结 果

(一) 蓖麻蚕组织中可溶性蛋白质的种类和含量 在所分析的材料中,在各发育阶段,从组织的蛋白质提取液中都找到了清蛋白类,球蛋白类以及明胶,而在初期蛹中除了这三类可溶性蛋白质外,还证明有初级肽和胰的存在。表 1 列出对各发育阶段蓖麻蚕组织蛋白质提取液的定性分析结果。

表 1 蓖麻蚕组织中可溶性蛋白质的种类

| 发育阶段 \ 种 类 | 清蛋白类 | 球蛋白类 | 明 胶 | 初 级 肽 | 次 级 肽 | 胰 |
|-------------|------|------|-----|-------|-------|---|
| 老熟幼虫 (♀, ♂) | + | + | + | - | - | - |
| 初期蛹 ♀ | + | + | + | + | - | + |
| 初期蛹 ♂ | + | + | + | + | - | + |
| 末期蛹 ♀ | + | + | + | - | - | - |
| 末期蛹 ♂ | + | + | + | - | - | - |
| 成 虫 ♀ | + | + | + | - | - | - |
| 成 虫 ♂ | + | + | + | - | - | - |

注:表中+、-号表示该蛋白质之有无,而不表示其数量。

从以上的結果可以明显地看到, 昆虫只有在变态初期当組織分解过程正在剧烈进行的情况下,体内才出現脛、腓这些蛋白質分解的中間产物,而在其他发育阶段,昆虫体内一般是沒有这类物質存在的。

Сисакян 和 Куваева (1953) 曾經发现在結茧开始以后的一定阶段之内,家蚕的体液及組織匀浆中的蛋白質水解酶活性很高。这說明在变态初期蛋白質的酶促分解进行得很剧烈。因此在这个时期发现有脛、腓等蛋白質分解产物的存在是不足为奇的。我們在蓖麻蚕中的分析結果表明和家蚕的情况是一致的。

表 2 列出用 Folin 酚試剂法所测定的盐提取液中可溶性蛋白質的含量。从表中可以看出,可溶性蛋白質(不包括明胶,下同)的总含量以及其中清蛋白类的含量,在各发育阶

表 2 蓖麻蚕組織中可溶性蛋白質的含量
(每克脫脂干組織所含的毫克数)

| 发育阶段 | 物質种类 | Folin 酚試剂 阳性反应物質 | 被三氯乙酸沉淀 的蛋白質总含量 | 清 蛋 白 类 | 球 蛋 白 类 |
|-----------|------|---------------------|--------------------|---------|---------|
| 老熟幼虫 ♀, ♂ | | 320.13 | 242.13 | 210.56 | 31.57 |
| 初 期 蛹 ♀ | | 391.60 | 337.75 | 304.60 | 33.15 |
| 初 期 蛹 ♂ | | 375.80 | 310.43 | 280.95 | 29.48 |
| 末 期 蛹 ♀ | | 268.40 | 225.24 | 191.05 | 34.19 |
| 末 期 蛹 ♂ | | 186.50 | 125.71 | 96.86 | 28.85 |
| 成 虫 ♀ | | 309.60 | 228.20 | 190.70 | 37.50 |
| 成 虫 ♂ | | 156.50 | 115.06 | 81.20 | 33.86 |

段以及雌雄两性中都不相同。在初化蛹的組織中含量最高,到羽化前有显著下降,羽化后則和羽化前相差不多。根据凱氏法測定氮結果表明蛋白質的总量在化蛹初期最低,到羽化前后則显著增加。由此可以明显地看出,在不同发育阶段昆虫体内的蛋白質不仅在含量上有变化,而且在性質上也有所不同。在蛹初期可溶性蛋白質的含量特別多,到蛹后期則不溶性蛋白質含量增加。因此,在变态过程的初期,即組織分解的阶段,不但产生了脛、腓、脛等蛋白質分解的中間产物,而且也增加了可溶性蛋白質的含量;到了后期,由于組織形成,成虫的器官发育成熟,可溶性蛋白質減少,不溶性蛋白質的含量則大大增加(表 3)。

表 3 蓖麻蚕組織中蛋白質总量及其中可溶性蛋白質所占的百分率

| 发 育 阶 段 | 蛋 白 氮 (占脫脂干重%) | 蛋 白 质 (占脫脂干重%) | 可溶性蛋白質 (占脫脂干重%) | 可溶性蛋白質占 蛋白質总量% |
|-----------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| 老熟幼虫 ♀, ♂ | 10.89 | 68.06 | 24.21 | 35.57 |
| 初 期 蛹 ♀ | 9.86 | 61.62 | 33.78 | 54.82 |
| 初 期 蛹 ♂ | 8.49 | 53.06 | 31.04 | 58.49 |
| 末 期 蛹 ♀ | 11.96 | 74.75 | 22.52 | 30.13 |
| 末 期 蛹 ♂ | 9.95 | 62.19 | 12.57 | 20.21 |
| 成 虫 ♀ | 12.55 | 78.44 | 22.82 | 29.09 |
| 成 虫 ♂ | 9.01 | 56.31 | 11.51 | 20.44 |

由以上結果可以看到可溶性蛋白質的含量在各发育阶段中雌雄两性之間有所不同。在羽化前后两性差异更为显著,雌性的可溶性蛋白質含量超过雄性的一倍。这显然是和

雌性体内卵的发育成熟有关。然而从蛋白質的总量来看,雌雄两性的差异并不如此悬殊。因此,在蛹后期及成虫中,雌雄两性的蛋白質在性質上的差异远比在含量上的差异要大。

从分析結果可以看到,可溶性蛋白質的组分,除明胶外,主要就是清蛋白类和球蛋白类;其中清蛋白类占絕大部分,并且在各发育阶段有所增減,球蛋白类的含量只占可溶性蛋白質中的很小一部分,而且在不同发育阶段其絕對含量基本上保持恆定不变(表2)。在各发育阶段清蛋白类和球蛋白类在可溶性蛋白質中所占的百分比列于表4。

表4 蓖麻蚕組織中清蛋白类和球蛋白类的百分含量

| 发育阶段 | 清蛋白类% | 球蛋白类% |
|-----------|-------|-------|
| 老熟幼虫 ♀, ♂ | 86.96 | 13.04 |
| 初期蛹 ♀ | 90.18 | 9.82 |
| 初期蛹 ♂ | 90.50 | 9.50 |
| 末期蛹 ♀ | 84.82 | 15.18 |
| 末期蛹 ♂ | 77.05 | 22.95 |
| 成虫 ♀ | 83.53 | 16.43 |
| 成虫 ♂ | 70.57 | 29.43 |

表5 柞蚕血淋巴及人血清中各类蛋白質的百分含量
(Филиппович, 1953)

| 蛋白質种类 | 柞蚕血淋巴 | 人血清 |
|-------|-------|------|
| 清蛋白 | 3.1 | 43.4 |
| 拟球蛋白 | 81.6 | 14.0 |
| 球蛋白 | 15.3 | 20.8 |

Филиппович (1953) 曾經比較过柞蚕血淋巴与人血清中清蛋白、球蛋白的百分比(表5), 发现昆虫的情况和人及高等动物相差很远。在本工作中,除了用 2% Na_2SO_4 溶液一次提取蛋白質以外,还依照 Hackman (1958) 的方法先用純水提取水溶性的蛋白質,然后再用 0.167 M Na_2SO_4 溶液提取盐溶性的蛋白質,結果水溶性和盐溶性蛋白質的含量分别相当于表2中清蛋白类与球蛋白类的含量。根据可溶性蛋白質的分类,一般将球蛋白分为两类:即优球蛋白(Euglobulins)和拟球蛋白(Pseudoglobulins),前者不溶于純水中,后者则容易溶于純水中。因此有些作者认为可以把拟球蛋白看作是清蛋白与球蛋白两类之間的过渡形式,并且可以划分为清蛋白类之一种。由此推測我們結果中的清蛋白类(即水溶性的蛋白質)可能是清蛋白类与拟球蛋白的总和,而我們結果中的球蛋白类(即盐溶性蛋白質)实际上是优球蛋白。在 Филиппович 所分析的柞蚕血淋巴中,清蛋白和拟球蛋白二者的总百分含量为 84.7%,优球蛋白为 15.3%(表5),与表4中我們的結果比較接近。在人血清中清蛋白的含量比球蛋白略高,但是其器官的提取物所含的蛋白質則主要属于球蛋白类(Haurowitz, 1950)。昆虫組織器官的可溶性蛋白質中清蛋白类和球蛋白类的比例也可能与血淋巴中有所不同,因此,有关昆虫組織中可溶性蛋白質的成分比例还應該作进一步的分析研究。

在分析过程中,发现老熟幼虫的盐提取液中含明胶特别多。由于明胶中缺乏色氨酸,酪氨酸也极少,对 Folin 酚試剂呈阴性反应,因此利用 Folin 酚試剂法測定盐提取液中可溶性蛋白質的含量时,不能显示出大量明胶的存在。在蛹及成虫的盐提取液中,明胶虽也存在,但含量則比老熟幼虫少得多。关于昆虫体内明胶的含量及其在发育过程中的变化,在文献中尚未看到过专门的报导。在老熟幼虫体内含有大量明胶的生理学意义是什么?目前还难于断定。也可能明胶和絲腺内絲蛋白、絲胶蛋白的前身物質有关。至于到蛹及成虫期明胶含量的减少,則可能是吐絲結茧的后果,也可能与不溶性蛋白質(例如胶原)的增加有所联系。

(二) 可溶性蛋白質中氨基酸組分之分析 对蛋白質水解液的紙上层析結果表明,在用 2% Na_2SO_4 溶液所提取出来的蛋白質中含有以下各种氨基酸: 胱氨酸(和半胱氨酸)、賴氨酸、組氨酸、精氨酸、絲氨酸、甘氨酸、天門冬氨酸、谷氨酸、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、纈氨酸(和蛋氨酸)、苯丙氨酸、亮氨酸(和异亮氨酸)。由于样品系用盐酸水解,在水解过程中色氨酸已被破坏,因此在层析图譜中不能看到色氨酸的斑点。在部分样品中,还发现有天門冬酰胺和谷酰胺的存在,但在水解完全的样品中,这二种酰胺已全部水解为相应的氨基酸——天門冬氨酸和谷氨酸,因此已不能找到这二种酰胺的斑点了。

根据定量紙上层析的結果初步确定了各种氨基酸的相对含量。表 6 所列系各种氨基酸的百分浓度。其中亮氨酸+异亮氨酸、谷氨酸、苏氨酸、甘氨酸+天門冬氨酸、以及賴氨酸的含量較高,胱氨酸+半胱氨酸含量最低,其他的氨基酸則居中(4—5%)。

表 6 蓖麻蚕組織中可溶性蛋白質的氨基酸組分
(占氨基酸总量的百分率)

| 发育阶段 氨 基 酸 | 老熟幼虫 ♀, ♂ | 蛹 | | | | 成虫(未交尾产卵者) | |
|---------------|--------------|-------|-------|---------------------|-------|------------|-------|
| | | 初期♀ | 初期♂ | 末期♀ | 末期♂ | ♀ | ♂ |
| 胱氨酸+半胱氨酸 | 3.48 | 1.99 | 2.00 | 1.96 | 2.98 | 3.47 | 3.88 |
| 賴 氨 酸 | 7.89 | 8.86 | 8.71 | 8.80 | 8.97 | 10.52 | 10.51 |
| 組 氨 酸 | 5.10 | 6.24 | 6.00 | 5.67 | 5.52 | 6.16 | 6.14 |
| 精 氨 酸 | 4.78 | 4.65 | 5.14 | 6.48 ¹⁾ | 4.90 | 3.85 | 4.33 |
| 絲 氨 酸 | 5.88 | 4.53 | 17.53 | 4.32 | 3.71 | 3.90 | 4.12 |
| 甘 氨 酸 | 17.12 | 13.44 | | 14.30 | 16.85 | 14.11 | 14.00 |
| 天門冬氨酸 | | | | | | | |
| 谷 氨 酸 | 7.10 | 17.55 | 16.61 | 16.51 | 16.02 | 17.22 | 11.93 |
| 苏 氨 酸 | 9.42 | | | | | | |
| 丙 氨 酸 | 6.02 | 3.75 | 3.54 | 3.94 | 4.09 | 3.74 | 3.60 |
| 脯 氨 酸 | 未定量 | 4.95 | 5.21 | 未定量 | 11.34 | 未定量 | 未定量 |
| 酪 氨 酸 | 5.40 | 4.00 | 4.21 | 3.35 | 3.37 | 2.85 | 3.07 |
| 纈氨酸+蛋氨酸 | 5.34 | 5.59 | 5.61 | 5.01 | 4.26 | 4.53 | 3.98 |
| 苯 丙 氨 酸 | 20.12 | 6.52 | 5.65 | 8.20 ²⁾ | 4.97 | 4.84 | 4.34 |
| 亮氨酸+异亮氨酸 | | 18.49 | 19.75 | 12.80 ³⁾ | 15.00 | 13.98 | 15.35 |

1) 可能有一部分天門冬酰胺。
2,3) 两者分离不好,在剪斑点时可能有一部分亮氨酸剪到苯丙氨酸范围之内。

以各不同发育阶段来比較,氨基酸的种类並沒有改变,只是某几种氨基酸的含量有所增減。以老熟幼虫和蛹、成虫相比,絲氨酸、甘氨酸(+天門冬氨酸)、丙氨酸、酪氨酸等的含量減少;而脯氨酸的含量虽各个发育阶段的数据不全,但仅以蛹期始末来看,也有明显的增加。此外,虽然谷氨酸与苏氨酸的总量在各阶段变化不大,但是实际上谷氨酸的含量从老熟幼虫的 7.10% 增加到成虫期的 11.93%,而苏氨酸的含量則从 9.42% 下降到 6.67%。由于甘氨酸和天門冬氨酸的斑点在层析图譜上非常接近,因此沒有分别求出两者的含量。从总量上来看,蛹和成虫期比老熟幼虫的含量降低。从文献上的資料看来,老熟幼虫吐絲結茧以后甘氨酸的含量大大降低,而天門冬氨酸的含量在成虫期則比幼虫有所增加。因此,在蛹和成虫期甘氨酸和天門冬氨酸总量的降低也可能是甘氨酸減少和天門冬氨酸增加的代数和。

丙氨酸、甘氨酸、酪氨酸和絲氨酸是絲蛋白的主要成分，因此蛹及成虫期可溶性蛋白質中这几种氨基酸含量的減少显然是由于吐絲的結果。

除此之外，胱氨酸+半胱氨酸的含量在蛹期較老熟幼虫降低，到成虫期又复升高。賴氨酸到成虫期也略增高，亮氨酸+异亮氨酸在各发育阶段含量也略有起伏。

总的來說，蓖麻蚕可溶性蛋白質的氨基酸組分在各发育阶段在定性方面是相当稳定的，在定量方面則由于吐絲的結果导致蛹及成虫和老熟幼虫之間某些氨基酸含量的差別。

Филиппович (1960) 曾研究了柞蚕各种組織器官的蛋白質中氨基酸的含量。他发现在吐絲之前老熟幼虫的絲腺内含物中蛋白質的氨基酸含量与其他器官組織中的有很大区别。在絲腺内含物中，蛋白質含有大量的甘氨酸、丙氨酸、絲氨酸和酪氨酸，其余各种氨基酸的量則非常少，因而构成独特的氨基酸組分。在腸壁、肌肉、脂肪体、血淋巴等其他組織器官中，蛋白質內的氨基酸在含量上可以分为三类：亮氨酸+异亮氨酸、谷氨酸及苯丙氨酸含量較高，胱氨酸及半胱氨酸較少，其余的氨基酸則居中(4—5%)。我們从蓖麻蚕中所得到的結果基本上也是同样的情况，蛹和成虫可溶性蛋白質的氨基酸組分符合于 Филиппович 在柞蚕的腸壁、肌肉、脂肪体、血淋巴等組織器官中所得之結果，老熟幼虫中可溶性蛋白質的氨基酸組分則相当于上述这些組織器官和絲腺及其内含物的总和。

四、討 論

本文系用蓖麻蚕整体組織进行研究。因此分析样品中包括体壁、肌肉、消化道、血淋巴、脂肪体、以及幼虫的絲腺、蛹后期和成虫的生殖腺等等一系列的組織器官。在昆虫发育过程中，这些不同的組織器官在化学成分上发生性質和含量的改变，以适应各阶段的生理需要。我們的研究結果表明，蓖麻蚕体内的蛋白質在老熟幼虫吐絲結茧后显著下降，在化蛹初期蛋白質含量很低，其中的可溶性部分却增多，因此在这个时期，可溶性蛋白質的含量占到蛋白質总量的一半以上。到成虫羽化前后，蛋白質总量* 虽又上升，但其中可溶性部分却減少，显然在这个时期所增加的是不溶性蛋白質。从蛋白質的含量和性質方面的这些变化过程可以看到：昆虫經過变态以后，幼虫的組織器官分解，重新形成了成虫的組織器官，蛋白質的可溶性部分和不溶性部分的含量比例发生了变化。由可溶性蛋白質在发育过程中的变动，以及在蛹后期和成虫中雌雄两性的显著差异等方面可以看出可溶性蛋白質和昆虫发育变态以及生殖等过程具有密切联系。Telfer 等 (1952, 1960) 研究了 *Cecropia* 天蚕蛾雌蛹在卵母細胞发育成熟时須从血淋巴中选择摄取特种的蛋白質。本工作虽未証明此类蛋白質即包括在上述的可溶性部分，但雌雄两性在其含量方面的差异則是頗易理解的。

我們在蓖麻蚕組織提取液中只研究了可溶性的簡單蛋白質，結合蛋白質中的可溶性部分在本工作中沒有进行研究。这些可溶性的簡單蛋白質一方面在結構上比較單純，在合成和分解上都可能比較方便；另一方面由于可以被溶解，因此輸送、动用都可能比不溶性蛋白質容易，这也說明在代謝方面可能比不溶性蛋白質有更大的可塑性。

* 在蛹后期蛋白質总量增加表示在蛹中进行蛋白質合成，不少作者在家蚕和柞蚕中也都报导过同样的結果。Смолин и Правдина (1958) 发现在柞蚕蛹期蛋白氮的增长比氨基酸的減少更多(不論是占干重%或是絕對含量)，說明蛹中蛋白質合成不仅消耗游离氨基酸，而且还需要其他的化合物，例如丙酮酸等。

此外,由于我们的结果是由整体组织中所得到的,还不能说明个别组织器官的变化情况,甚至还有可能“冲淡”了某些特殊组织器官在发育过程中的剧烈变化。例如在可溶性蛋白质的氨基酸组分分析中,从整体来看,老熟幼虫的甘氨酸、丙氨酸、酪氨酸和丝氨酸虽比蛹和成虫为多,但差异并不特别突出。而实际上老熟幼虫丝腺内含物的氨基酸组分是很独特的,上述这四种氨基酸含量占绝对百分率。可是混合在整体组织中这种特异情况就不可能明显地表现出来。在蛹末期和成虫中,由于卵的发育成熟,蛋白质在性质和含量方面的两性差异都表现得更为明显。可以肯定,如果将生殖系统或血淋巴单独进行分析,那么这种两性差异将更为突出。因此,进一步将各种组织器官进行单独研究,将会提供更有意义的结果。

最后,必须指出,本文中所研究的清蛋白类和球蛋白类是可溶性蛋白质中最主要的两大类,这两类蛋白质都并不是单一的成分,而是不同部分的复合。利用电泳和免疫学的方法都可以将其中不同的部分分离开来,这在进一步的研究中是必不可少的。

参 考 文 献

- 小田純子, 1954. 家蚕の蛋白質に関する研究。(II) 家蚕の表皮蛋白質について(預報)。日本蚕糸学杂志, 24(5—6):338—43。
- Debro, J. R. et al., 1957. The determination of serum albumin and globulin by a new method. *J. Lab. & clin. Med.*, 50(5): 728—32.
- Hackman, R. H., 1953. Chemistry of insect cuticle. I. The watersoluble proteins. II. The water insoluble proteins. *Biochem. J.*, 54:362—70.
- , & Goldberg, M., 1958. Proteins of the larval cuticle of *Agrianome spinicollis* (Coleoptera). *J. Insect Physiol.*, 2(3): 221—31.
- Haurowitz, F., 1950. Chemistry and biology of proteins. Chapter 8. p. 148—74.
- Inoue, R. et al., 1933. On the amino acid composition of the protein of the chrysalis of the domesticated and Tussah silkworm. *Bull. Seric. & Silk Ind. Jap.*, 6(2):1.
- Lowry, O. H. et al., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265—75.
- Mercer, E. H., 1954. The soluble proteins of the silk gland of the silkworm, *Bombyx mori*. *Textile Res. J.*, 24:135—45.
- Telfer, W. H., 1960. The selective accumulation of blood proteins by the oocytes of Saturnid moth. *Biol. Bull.* 118(2):338—51.
- , & Rutberg L. D., 1960. The effects of blood protein depletion on the growth of the oocytes in the cecropia moth. *Biol. Bull.* 118(2):352—66.
- , & Williams, C. M., 1952. The relation of the blood proteins to egg formation in the cecropia silkworm. *Anat. Rec.* 113:563.
- Trim, A. R., 1941. Studies in the chemistry of insect cuticle. I. Some general observations on certain arthropod cuticles with special reference to the characterization of the proteins. *Biochem. J.*, 35:1088.
- Сисакян, Н. М. и Куваева, Е. Б., 1953. Обмен веществ в полостной жидкости тутового шелкопряда в процессе метаморфоза. *Биохимия*, 18(3):354—62.
- Смолин, А. Н. и Правдина, Н. Ф., 1958. О взаимосвязи углеводного и азотистого обмена у куколки дубового шелкопряда в период метаморфоза. *Биохимия*, 23(6):819—23.
- Филиппович, Ю. Б., 1953. Связь белков и аминокислот гемолимфы с синтезом белков шелка в организме дубового шелкопряда. *Уч. Зап. Моск. Гос. Пед. Ин-та*, вып. 7: 125—82.
- , 1958. Количественное определение аминокислот методом хроматографии распределения на бумаге. *Уч. Зап. Моск. Гос. Пед. Ин-та*, вып. 9: 147—212.
- , 1960. Количественное содержание аминокислот в белках тканей и органов дубового шелкопряда. *Труды каф. орг. и биол. химии МГПИ*, вып. 10: 73—91.

STUDIES ON THE SOLUBLE PROTEINS OF *PHILOSAMIA* *CYNTHIA RICINI*

CHAI CHI-HUI

(Institute of Zoology, Academia Sinica)

Qualitative analysis of the tissue extracts of *Philosamia cynthia ricini* showed that in all stages of development the soluble proteins contained albumins, globulins and gelatin. In the beginning of the pupal stage, primary proteose and peptone were also detected in the tissue extract. The quantities of albumins and the soluble proteins in general, determined with the Folin phenol reagent, were found to be variable in different stages of development. They were highest in the newly formed pupae, and decreased greatly toward the end of pupal stage while the imaginal organs were being formed. The amount of globulins, however, remained nearly constant throughout all the developmental stages. Gelatin, which gives a negative reaction with the Folin phenol reagent, was noted to be present in abundance in the mature larvae. Sexual difference was observed in the soluble protein content. It was most remarkable in the mature pupae and the adults, showing apparent relation to the egg formation in the females.

The amino acid composition of the soluble proteins was studied by means of paper chromatography. The following common amino acids were detected: cystine (and/or cysteine), lysine, histidine, arginine, serine, glycine, aspartic acid, glutamic acid, threonine, alanine, proline, tyrosine, valine (and/or methionine), phenylalanine, leucine (and/or isoleucine). Tryptophan could not be found on the chromatograms due to decomposition in the process of acid hydrolysis. In the pupal and imaginal stage, the percentage contents of glycine, alanine, tyrosine and serine were lower as compared with those in the larvae immediately before spinning.

The physiological significance of the developmental and sexual differences in the contents of the soluble proteins has been discussed.